"PATHOLOGICA"

RIVISTA QUINDICINALE

Anno II. 15 Agosto 1910 N.° 43.

PROFESSORE PIO FOÀ

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Torino

LE SECREZIONI INTERNE E LA COLORAZIONE INTRAVITALE



Le secrezioni interne e la colorazione intravitale

LE SECREZIONI INTERNE E LA COLORAZIONE INTRAVITALE

RIVISTA E NOTA PRELIMINARE DEL PROF. PIO FOÀ

Istituto di Anatomia Patologica della Regia Università di Torino.

Sono ben noti gli studi di Ehrlich sulle colorazioni intravitali fatte con sostanze coloranti, colle quali è facile seguire col microscopio la distribuzione del colore, e se ne possono rilevare le più differenti localizzazioni secondo la costituzione della sostanza colorante impiegata. È nota sotto questo riguardo la grande elettività del bleu di metilene per le fibre nervose viventi, di modo che si può seguire la distribuzione del colore in un pezzetto di tessuto tagliato di fresco sino alle sue ultime anastomosi. All' opposto il rosso neutro colora in quasi tutte le cellule dell' organismo i granuli cellulari, mentre l' azzurro pirrolo colora solo una varietà di cellule connettive. Le sostanze coloranti si dividono in neurotrope, lipotrope, ecc., a seconda che esse si raccolgono nel sistema nervoso, nel tessuto adiposo, ecc.

Ehrlich, come è noto, estese questo concetto istochimico alla terapia, e classifica come neurotropa una sostanza che agisca solo sul cervello, o come parassitotropa se agisce sopra un determinato parassita (tripanosoma). Da queste considerazioni Ehrlich è pervenuto alla dottrina del legame specifico delle tossine a determinate parti del corpo e dei rispettivi elementi cellulari o ricettori, il che lo ha portato alla teoria delle catene laterali per ispiegare i fenomeni dell'immunità. Seguendo lo stesso ordine generale d' idee, Ehrlich si condusse allo studio delle sostanze parassitotrope e alla scoperta tra le altre del famoso 606, che per ora sembra il più potente specifico contro la sifilide. D'altra parte la scoperta dell'azzurro pirrolo e dell' azzurro isanamina, condussero a ricerche istologiche intese a dilucidare alcuni problemi istobiologici di grande interesse, e sulle quali desidero intrattenere il lettore.

Il prof. E. Goldmann di Freiburg i/Br. ha infatti intrapreso una serie di ricerche coll'azzurro pirrolo e colla isanamina, per mezzo delle quali si ottengono delle identiche colorazioni intravitali di alcuni elementi del connettivo. Gli animali da esperimento furono i topi e i ratti, e servirono anche per ricerche di controllo le rane, le cavie e i conigli. Il bleu pirrolo è solubile nell'acqua e s' impiega per le ricerche una soluzione acquosa all' 1 % di cui si inietta nel topo sottocute 1 c.c. per 20 gr. di peso del corpo. Dopo poche ore si osserva che l'animale ha emesso un' orina azzurra e più tardi anche le scariche alvine sono colorate. Dopo due o tre giorni dalla iniezione si osserva un color bleu pallido nei padiglioni delle orecchie e ben presto cominciano a colorarsi il musetto, la coda, le estremità e sopratutto l' umor acqueo. La colorazione s' intensifica a poco a poco e dura molto tempo, anche diversi mesi. Se ogni sei od otto giorni si ripete l'iniezione, l' animale può riceverne anche 10-12 senza alcuna alterazione della salute, e allora si colora completamente e tutte le parti visibili, sopratutto la pelle, diventano di un azzurro intenso. L'appetito rimane normale, la mobilità è invariata e ha luogo ugualmente l' accoppiamento, cui seguono la gravidanza e il puerperio normali. Come l'orina e le fece, così anche l'amnios si colora in azzurro. Dove precedentemente sia fatta una lesione, p. es. una causticazione, quivi la colorazione ha luogo più presto che nelle parti normali. Se il topo ha un tumore, la pelle che lo ricopre è la prima parte che si

colora; se il tumore si sviluppa dopo la iniezione, allora altre parti si scolorano, e invece si concentra la colorazione nella regione del tumore. Nei primi stadi della gravidanza i capezzoli soli sono colorati; se si proseguono le iniezioni si osserva che la pelle va scolorandosi sempre più, cosicchè non restano azzurri che i capezzoli. Urina e fece non sembrano colorite; anche queste sostanze impallidiscono.

Negli animali congiunti in parabiosi, si osserva che la colorazione procede nell' animale iniettato lentamente e progressivamente. Indi dai ponti cutanei di congiunzione il colore si propaga al secondo animale fino a che anche questo diventa completamente azzurro, cosichè non si può discernere quale dei due animali sia stato iniettato; in pari modo segue successivamente la decolorazione.

Se si esamina l'utero di un animale a gravidanza inoltrata, si osserva che l'utero si colora, e l' umor acqueo è pure azzurrognolo; gli embrioni sono avvolti da membrane azzurre; la placenta è pure colorata; gli embrioni sono affatto incolori: del che riparlerò più innanzi.

In che modo si produce la colorazione? Non certo per la distribuzione dei vasi, chè non si potrebbe spiegare, ad es., perchè il sistema nervoso rimanga incolore e sieno invece molto colorate le fascie aponeurotiche. La sostanza colorante passa presto al sangue; se ne colora il siero, il quale si scolora di pari passo colle sostanze escrementizie. Urina, feci, umor acqueo scolorati si accompagnano anche allo scoloramento del siero. Il liquido cerebrospinale può rimanere affatto incolore quando il siero è distintamente colorato; esso può prendere un tono più o meno vivamente azzurro secondo il colore dei rispettivi plessi coroidei, che del resto sono tra gli ultimi organi che si colorano. I globuli rossi e bianchi del sangue non prendono il colore; gli elementi del midollo delle ossa e quelli della polpa splenica non si colorano. La materia colorante si secerne dal siero di sangue attraverso i vasi delle mammelle e colora il latte, ma gli elementi delle mammelle stesse non prendono parte alla colorazione, la quale non è dovuta perciò ad un fatto di secrezione da parte delle cellule ghiandolari.

Analogamente Schlecht ha osservato l'incapacità di colorarsi dei leucociti col carmino disciolto nel sangue; solo quando nel sangue circola del carminò in granuli, questi vengono fagocitati dai leucociti. Così può avvenire che qualcuno dei leucociti presenti granuli azzurri col pirrolo o coll'isanamina, ma solo in casi patologici, e probabilmente per azione fagocifica. Se la materia colorante è disciolta nel siero, come è dimostrato, e non produce alcuna colorazione in circolo degli elementi del sangue, diviene interessante conoscere come si distribuisce la materia colorante entro gli organi.

Dovunque, si incontra una cellula che domina il reperto microscopico nei più diversi organi; essa sta per grossezza tra un piccolo e un grande linfocito; in generale è rotonda e possiede un grosso nucleo irregolare di forma e ricco di cromatina, e sopratutto un protoplasma finemente granuloso. Il nucleo è di regola circondato da una tenue zona di protoplasma incolore; nel resto, il protoplasma possiede granuli tinti di azzurro chiaro, tondeggianti, di grossezza generalmente conforme e di numero variabile. Sul peritoneo, nella cute, nei tendini, nelle fascie, nel tessuto intermuscolare, le cellule sono di forma allungata, o fusata, o ondulata. Nel fegato si colorano le cellule di Kupfer, come avviene con altre colorazioni vitali (carmino, collargolo); i loro granuli sono capaci di fissare delle sostanze coloranti che stanno disciolte nel sangue. Esiste un singolare contrasto fra i polmoni intensamente colorati e il fegato relativamente pallido. Le cellule con granuli azzurri intorno ai bronchi contengono molte particelle di carbone; ciò avviene sopratutto quando l'animale è al massimo di colorazione, e particolarmente quando esiste un processo flogistico nel polmone. Allora si osserva che determinate cellule nel polmone hanno una grande forza di attrazione per la sostanza colorante azzurra, e che questo va a danno delle cellule di Kupfer.

Nelle cellule epatiche e negli epiteli dei canali biliari non si trova mai la sostanza azzurra; invece si trova la stessa nel lume dei canali biliari, nel quale deve essere stata essudata dal sangue. È probabilmente al bleu che è passato nella bile che si deve il colore azzurro delle

fecce mentre l'epitelio intestinale è privo di materia colorante. Avviene dunque per il fegato ciò che sopra si è detto per le mammelle; la eliminazione della sostanza colorante colla bile non avviene per attività secretiva delle cellule epiteliali. Nei reni si colora vivamente il sistema dei tubuli contorti. Glomeruli, sostanza midollare e colonne midollari rimangono incolori. Si trovano invece colorati dei corpi a rete di bastoncini che si trovano fuori dei canalicoli nelle guaine linfatiche perivascolari. Queste ricerche sul rene corrispondono in generale ad altre già fatte da altri autori con diverse sostanze coloranti.

Nelle capsule surrenali ha luogo la colorazione particolarmente nella corteccia, mentre non dà che un tono debolmente azzurro nella sostanza midollare. La colorazione più intensiva è nella zona glomerulosa, s'irradia lungo la zona fascicolata e decresce nella zona reticolata. Nel tratto intestinale si trova la sierosa ricca di cellule a granuli colorati in bleu; parimenti come un epitelio stratificato si distendono le cellule azzurre sulla superficie dello stomaco e dell'intestino, e parimente si trovano tra le fibre muscolari e particolarmente nel tessuto sottomucoso, e col metodo dei vasi si protendono sino ai setti ghiandolari, cosicchè dette cellule si applicano alla membrana basale che penetrano parzialmente con prolungamenti interposti agli epiteli, i quali in tutto il tratto intestinale rimangono incolori. Nello stesso modo si comportano le cellule azzurre nel pancreas, nelle ghiandole salivali, nella tiroidea, nel laringe, nella trachea e nell'esofago; nella mammella allattante aumentano straordinariamente le cellule azzurre del tessuto interstiziale. Operando iniezioni interstiziali doppie con pirrolo e rispettivamente isanamina e col rosso neutro si distinguono facilmente le cellule azzurre, che sono particolari elementi del connettivo da una parte e le *mastzellen* e gli elementi incolori del sangue dall'altra. Solo la colorazione intravitale può rivelare l'enorme estensione delle cellule azzurrofile nel connettivo di sostegno dell'organismo.

Sotto questo rapporto evvi analogia fra i risultati che si ottengono colle suddette sostanze coloranti e quelli che si ottengono col carmino, col quale pure le cellule connettive si colorano più facilmente e più attivamente per iniezione sottocutanea che per via endovenosa. È ormai sostenibile l'idea di vari istologi e sopratutto di Renaut, che il connettivo non è solo uno stroma, ma è la più vasta di tutte le ghiandole a secrezione interna, poichè impegna i suoi elementi attivi dovunque penetrano vasi sanguigni e il tessuto connettivo con essi. I vasi capillari, le arterie e le vene in qualunque parte rimangono sempre incolori, e nelle loro pareti mancano le cellule azzurrofili.

Nelle ghiandole emolinfatiche si osserva una azione elettiva della materia colorante sulle cellule del reticolo dei seni; il colore azzurro che prendono le ghiandole linfatiche dipende dalla suddetta affinità dei granuli protoplasmatici delle cellule del reticolo dei seni per la materia colorante; i nodi o follicoli linfatici rimangono, invece, incolori.

Estremamente mutevole è la colorazione che assume la milza nei topi e nei ratti. Solo eccezionalmente vi si scorge una tinta azzurra intensa, perchè il sangue nasconde le colorazione, e vario è il rapporto tra follicoli e polpa. Le cellule del reticolo sono quelle che fissano la sostanza colorante, come avviene nelle ghiandole linfatiche. Dalle cellule del reticolo si distinguono i macrofagi, e cellule giganti che racchiudono dei resti fagocitati colorati in azzurro pallido. Le cellule del reticolo sono colorate anche nello spessore dei follicoli linfatici. Col rosso neutro, invece, si colorano le cellule dei follicoli, e si trovano granulazioni colorate extracellulari, forse derivate da *mastzellen* che si trovano abbondanti nelle milze patologiche. Nei testicoli si colorano elettivamente le cellule interstiziali, le quali sono tondeggianti nella giovane età e costeggiano i vasi nel connettivo intertubolare. Quando si forma la spermatogenesi, le cellule interstiziali si addossano alle pareti dei canalicoli, e singolarmente spingono i loro prolungamenti attraverso i fori della membrana canalicolare. Quando si eliminano gli spermatidi dalle cellule di Sertoli, questi resti delle cellule interstiziali penetrano nel lume del canalicolo, presentando variazioni di forma, e traslocabilità dipendente certo da azione chemotattica da parte delle cellule seminali mature.

Nell'ovaia si trovano cellule colorate non molto numerose dello stroma della sostanza midollare. L'epitelio germinale rimane incolore nei follicoli primitivi; invece nei follicoli maturi si vedono colorazioni nella membrana granulosa. L'antro del follicolo presenta cellule a granuli colorati solo al centro, mentre gli strati cellulari esterni della membrana granulosa, la faccia esterna e interna del follicolo sono incolori. Gli elementi colorati non vengone dal di fuori, ma rappresentano una modificazione degli elementi esterni dello strato granuloso, e sarebbero in rapporto colla vacuolizzazione del follicolo, e quindi rappresenterebbero un fatto fisiologico. Poichè si osserva il fatto curioso che una femmina di topo universalmente colorata si scolora rapidamente quando in essa subentra una gravidanza, era interessante esaminare come si comportasse l'utero gravido. Sezionando l'utero gravido alla sede della placenta si osserva innanzi a tutto che l'embrione è completamente incolore; la parete uterina dove s'inserisce la placenta è leggermente colorata; la placenta presenta delle chiazze di colorazione, e molto azzurra è la faccia interna dell'amnios le cui cellule presentano granuli intensivamente colorati, tantochè Sobotta derivava quelle granulazioni dalla emoglobina. L'amnios è anch'esso colorato, per l'attività secretiva delle cellule predette.

Le cellule giganti della placenta che servono a mantenere un diretto rapporto fra l'embrione e i vasi della decidua materna, sono avidissime di materia colorante. Essi sono dei veri angioclasti destinati a corroderere i vasi e a provocare quegli stravasi di sangue che servono alla nutrizione dell'uovo nei primi tempi della sviluppo. Nella placenza completamente sviluppata si possono vedere tre strati: l'esterno con le suddette cellule gigantesche; indi uno strato con cellule stellate della decidua che non prendono la colorazione vitale, e tra queste si trovano cordoni o cumuli di cellule di origine fetale provenienti dall'ectoderma, che formano il confine fra i tenui capillari fetali e i seni venosi materni, e che sul finire della gravidanza si riducono quasi solo al nucleo. Queste cellule ectodermali limitanti i seni uterini presentano la stessa elettiva colorazione intravitale dei granuli del loro protoplasma, come le loro cellule gigantesche, il che dimostra la loro origine comune. Le cellule entodermiche e le ectodermiche sono le sole che assumono la colorazione vitale e attestano con ciò non solo la loro d'origine, ma anche la loro importanza funzionale per la nutrizione del feto. Gli eritrociti decorrenti nei vasi fetali provenienti dall'allantoide sono più grandi e meno colorabili di quelli che decorrono nei vasi materni, e taluni di essi si presentano nucleati.

Dall'insieme delle ricerche risulta dunque che per mezzo di sostanze azzurre che hanno grande affinità col tessuto connettivo, si è dimostrata l'esistenza di cellule a protoplasma granuloso che si trovano dappertutto ove si esercitano importanti processi di ricambio. Quelle cellule indipendenti dalla parete vascolare si trovano in ogni spazio del tessuto connettivo e possono penetrare tra gli epiteli. Esse sono strettamente affini alle cellule fisse del connettivo, come lo dimostra l'identica reazione verso la materia colorante. Le cellule stellate del fegato, le interstiziali dei testicoli, le cellule del reticolo delle ghiandole sanguigne e linfatiche sono ontogeneticamente affini tra loro. È proprietà di tutti questi elementi di fissare nei loro granuli sostanze disciolte nel sangue e di trattenerle per lunghissimo tempo. Gli elementi del connettivo hanno come le cellule granulose del sangue la proprietà di reagire all'azione chemotatica e di diventare semoventi in alto grado.

Il pregevole lavoro del prof. E. Goldmann contiene molte riflessioni sull'importanza fisiologica dei reperti che ho largamente riassunto; io mi limito qui ad aggiungere che dopo di aver controllato nel topo col bleu d'isanamina i reperti descritti e raffigurati con tanta esattezza dal prof Goldmann, ho iniziato alcune ricerche mediante iniezioni parenchimatose nel testicolo di conigli. Confermata l'esistenza di un'affinità delle cellule interstiziali, ossia dei granuli del loro protoplasma per la materia colorante, ho eziandio constatato che nel tessuto interstiziale del testicolo del coniglio in cui siensi fatte alcune iniezioni a intervalli di 6-8 giorni si osservano non solo le cellule azzurrofili descrittte da Goldmann, ma anche piccole cellule leucocitoidi perivascolari che presentano granuli colo-

rati e regolarmente distribuiti, mentre come è noto i leucociti del sangue colorante non si colorano affatto.

Sono troppe scarse in proposito le mie osservazioni per trarne alcuna conclusione, ma rilevo che la presenza di quelle cellule leucocitoidi a granuli colorati intorno ai vasi sanguigni non fu raffigurata e descritta nelle belle ricerche fatte sul topo normale e che sopra ho riassunto. L'aspetto generale dell'organo mi pareva normale, ma non posso tuttavia escludere che quelle cellule avessero il significato di fagociti, dato il metodo seguito per la colorazione dell'organo. Aggiungo che ho eseguito le iniezioni di materia colorante ripetutamente nel testicolo di un coniglio, e dopo un certo tempo l'ho reso tubercoloso con l'iniezione di poca sostanza caseosa presa da una cavia. Il testicolo ingrossò notevolmente; la colorazione scomparve interamente dove si era prodotta la caseosi, ma intorno ai focolai tubercolari si notava la esistenza di ampi canalicoli seminiferi privi di nemaspermi, in cui erano accumulate molte grosse cellule a granuli azzurri. Solo raramente se ne trovava negli interstizi o nella parete del canalicolo e si sarebbe detto che nelle condizioni patologiche in cui era stato posto il testicolo, tutte le cellule interstiziali si fossero traslocate nel lume stesso dei canalicoli, come in circostanze fisiologiche, ma in proporzione molto minore, si può verificare.

Nell'epididimo normale si trovano pure colorate le cellule interstiziali intorno ai vasi. Nell'epididimo appartenente al testicolo da me reso tubercoloso dopo l'iniezione di materia colorante, si scorgevano le cellule azzurre impegnate nella parete dei canalicoli, e alcune di esse la smagliavano, e cominciavano a penetrare nel lume del rispettivo canalicolo.

Ulteriori esperienze mi permetteranno di interpretare questo curioso fenomeno che fin da ora ha attratto la mia attenzione, e che può già tuttavia indicare l'importanza del nuovo metodo di ricerca non solo per lo studio della funzione normale, ma anche per quello della patologia degli organi.

Interessante è il reperto che si ottiene nel fegato, iniettando la materia colorante nella milza. La ricerca fu fatta nel cane, che venne sacrificato 3-5 giorni dopo l'iniezione. In esso si trovò che la materia colorante era penetrata nel fegato e vi coloriva intensamente i granuli delle cellule situate lungo la parete dei vasi portali, e quelle cellule di Kupfer che appartenevano solo all'origine dei capillari portali intraepatici. Esaminando il fegato dei cani appena fatta l'iniezione di sostanze coloranti nella milza, si vede che essa è penetrata nel lume dei vasi portali, e solo più tardi si localizza nelle cellule periportali e nelle cellule di Kupfer.

Anche i testicoli esaminati subito dopo la iniezione presentano la materia colorante diffusa lungo il tessuto intercanalicolare. Più tardi si fissa nelle cellule interstiziali.

Die Aussere und innere Sekretion des gesunden Organismus in lichte der « vitalen Färbung » von Prof. Dr. E. GOLDMANN, aus Freiburg i/Br. Tübingen, H. Laupschen Buchhindlung, 1909.

“PATHOLOGICA„

RIVISTA QUINDICINALE

Anno II. 15 Agosto 1910 N.° 43.

REDAZIONE
Istituto di Patologia Generale
GENOVA

AMMINISTRAZIONE
Via Agostino Bertani, N. 5
GENOVA

Casella Postale 884

Coi tipi dello Stab. Schenone - Genova.